

НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КАРДИОЛИПИНА IgM

1492-11, Cardiolipin IgM

Каталог. № : 1492-11
Количество : 96
Производитель: DAI (США)

Методика от 10-07-2009



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

Анализ	Cardiolipin IgM ELISA
Метод	Твердофазный иммуноферментный анализ
Принцип	ИФА - непрямой, Планшет, покрытый антигеном
Диапазон обнаружения	6,3-200 г/л
Образец	5 мкл сыворотки
Специфичность	95%
Чувствительность	10 г/л
Общее время	~90 мин
Срок годности	12 месяцев

Результаты лабораторного исследования не могут быть основой медицинского заключения. Необходимо принимать во внимание историю болезни пациента и последующие анализы.

НАЗНАЧЕНИЕ

Настоящий набор предназначен для обнаружения и полуколичественного определения IgM антител к кардиолипину в сыворотке или плазме человека. Анализ используется для определения антител IgM в одном образце сыворотки. Результаты используются в целях диагностики анти-фосфолипидного синдрома в пациентов с аутоиммунным заболеванием.

ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ И ОБЪЯСНЕНИЕ МЕТОДА

Аутоантитела кардиолипина (ACA) часто обнаруживают у пациентов с системной красной волчанкой (СКВ), а также у пациентов с другими аутоиммунными заболеваниями и у некоторых людей, не страдавших ранее от основных заболеваний. Повышение уровня ACA связывают с наличием венозного и артериального тромбоза, тромбоцитопении и повторных выкидышей. Антифосфолипидный синдром использовался для описания пациентов, у которых наблюдались данные клинические проявления заболевания, в сочетании с ACA и волчаночным антикоагулянтом.

ACA встречается в иммуноглобулинах класса IgM, IgG и IgA. Определение антител IgM является важным показателем при диагностировании начинающейся аутоиммунной болезни, тогда как наличие антител IgG будет свидетельствовать о прогрессирующей стадии аутоиммунных расстройств. ACA IgG демонстрируют тесную взаимосвязь с клиническим состоянием пациента с тромбозом, тромбоцитопенией, выкидышем и некоторыми неврологическими расстройствами. ACA IgA часто ассоциируются с антителами IgG. ACA IgA проявляют большую достоверность при тромбозе и выкидыше.

Анализ на ACA разных изотипов ИФА-методом помогают при диагностировании антифосфолипидного синдрома у пациентов с СКВ и волчаночноподобными расстройствами.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Очищенные антигены кардиолипина наносятся на поверхность микролунок. Если присутствуют специфические антитела к антикардиолипину, они связываются с антигеном. Несвязанный материал вымывается. После добавления ферментного конъюгата он связывается с комплексом антитело-антиген. Избыток ферментного конъюгата вымывается, добавляется хромоген субстрат ТМБ. В определенное время каталитическая реакция фермент-конъюгат останавливается. Интенсивность образовавшегося цвета пропорциональна количеству специфических антител в образце. Результаты считываются микропланшетным ридером и сравниваются параллельно с калибраторами.

ХРАНИЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Хранить набор при 2-8°C.
2. После вскрытия пакета оставшиеся покрытые лунки необходимо немедленно поместить в запечатанный пакет с осушителем. Рекомендуется использовать лунки на протяжении 30 дней.
3. Реагенты стабильны до окончания срока пригодности.
4. Все реагенты необходимо хранить и использовать вдали от света, тепла и солнца.

СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови и отделите сыворотку.
2. Образцы можно хранить до 7 дней при 2-8°C, или до полугода в замороженном виде. Избегайте многократных циклов замораживания / размораживания.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. **Микролуночные стрипы:** лунки, покрытые антигеном кардиолипина: 12 × 8 лунок
2. **Абсорбирующий раствор:** 1 бут., 60 мл. флакон с черным колпачком.
3. **Моющий буфер (10x концентрат):** 1 бут., 100 мл.
4. **Хромоген/Субстрат раствор:** 1бут., 15 мл. янтарный флакон
5. **Ферментный конъюгат:** 1бут., 12 мл., раствор красного цвета.
6. **Набор калибраторов:** 0,16 мл / флакон
7. **Набор контролей** Отрицательный и положительный контроли. Диапазоны указаны на этикетках. 0,16 мл/флакон.
8. **Стоп раствор:** 1,5N раствор кислоты 1 бут., 12 мл.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ

- Потенциально опасные материалы:
Калибраторы и контроли содержат компоненты человеческого происхождения, которые тестировались реагентами, лицензированными FDA, и оказались неактивными к поверхностному антигену гепатита В и антителам ВИЧ. Однако, ни один из известных методов не может дать полной гарантии отсутствия инфекционных агентов в исследуемом материале. Поэтому необходимо обращаться с данными реагентами на уровне биологической безопасности 2, как рекомендуется Центром контроля заболеваний / Национальные Институты Здравоохранения, "Биологическая безопасность в микробиологических и биомедицинских лабораториях", 1984.
- Не пипетируйте ртом. Нельзя есть, пить и пользоваться косметикой в месте, где используются реагенты.
- Не смешивайте компоненты разных лотов и изготовителей.
- Некоторые реагенты набора содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид может реагировать со свинцом и медью и формировать взрывоопасные вещества. При выбрасывании промойте большим количеством воды.
- Избегайте контакта с следующих реагентов с кожей или слизистыми оболочками: ферментный конъюгат, субстрат ТМБ, стоп-раствор.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ

1. Приготовление 1х мощного буфера
Приготовьте промывочный буфер, разбавив 10× промывочный концентрат дистиллированной или / и неионизированной водой, чтоб получить в конечном итоге объем 1л.
2. Перед использованием привести все реагенты к комнатной температуре (20-25°C) и слегка смешать.
3. Подготовка кривой калибратора. Набор калибраторов рекомендуется использовать в течение 24 часов. Для калибратора А (100 м/л) следует добавить 10 мкл исходного калибратора к 1 мл абсорбирующего раствора. Подготовьте калибраторы В, С, D и E путем серийного разбавления 500 мкл калибратора А с равным объемом абсорбирующего раствора к 50, 25, 12,5 и 6,3 м/л.

Калибратор	Добавить		К абсорбирующему раствору	м/л
A	Исходный калибратор	10 мкл	1000 мкл	100
B	Калибратор А	500	500	50
C	Калибратор В	500	500	25
D	Калибратор С	500	500	12,5
E	Калибратор D	500	500	6,3

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Установите необходимое количество покрытых стрипов в держатель.
Предварительно промойте микропланшетные лунки – Повторите промывание три раза моющим буфером.

2. Приготовьте 1:101 разбавление тестовых образцов и набора контролей добавлением 5 мкл образца в 500 мкл абсорбирующего раствора. Тщательно смешайте.
3. В соответственные лунки внести 100 мкл предварительно разбавленных образцов, калибраторов и контролей. Постучите по держателю, чтоб удалить воздушные пузырьки из жидкости и хорошо смешайте. Инкубировать при комнатной температуре **30 минут**.
4. Удалите жидкость из лунок. Повторите промывание три раза моющим буфером.
5. Добавьте 100 мкл конъюгата в каждую лунку и инкубируйте при комнатной температуре **30 минут**.
6. Удалите ферментный конъюгат из лунок. Повторите промывание три раза моющим буфером.
7. Добавьте 100 мкл раствора хромоген / субстрата в каждую лунку и инкубируйте при комнатной температуре **30 минут**.
8. Остановите реакцию добавлением 100 мкл стоп раствора. Перед считыванием убедитесь, что в ячейках нет воздушных пузырьков.
9. Считайте ОП микропланшетным ридером при 450 нм.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Постройте стандартную кривую, откладывая ОП 450нм на оси у напротив концентрации калибратора MPL на оси x на специальной бумаге.
2. Используя значение ОП каждого образца, определите концентрацию из стандартной кривой.
3. Типичный пример см. в оригинале инструкции.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

1. Контроли должны использоваться при каждом тесте и концентрация должна отвечать диапазону, указанному на этикетке.
2. Средняя ОП бланка должна быть < 0,150, а средняя ОП для 100 MPL калибратора должна быть >0,750.

Дополнительные контроли можно приготовить с образцов человеческой сыворотки и хранить при -20 °С.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Негативный < 15 MPL

Низко позитивный 15-25 MPL

Средне позитивный 26-79 MPL

Высоко позитивный > 80 MPL

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

У большинства пациентов с повторяющимся тромбозом или выкидышами при фосфолипидном синдроме наблюдается изотип IgG на уровне 40 г/л и выше. В более редких случаях кроме IgG есть еще и IgM, либо только IgM-антитела.

Повышенные уровни АСА, хоть и редко, но все же наблюдаются у обычного населения. Тем не менее, несколько аутоиммунных и инфекционных заболеваний могут стать результатом временного или хронического возрастания АСА.

Повышенные уровни АСА наблюдались при SLE, ревматоидном артрите, туберкулезе, синдроме Бецета и других болезнях.

Уровень нормальных значений АСА может меняться от населения к населению.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

1. Подобно другим серологическим анализам, результаты данного теста должны использоваться совместно с результатами иных диагностических процедур, принимая во внимание клиническую картину пациента в целом.
2. Хотя АСА ассоциировался с определенным множеством SLE, клиническая важность АСА и SLE и других болезней остается под исследованием.

ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИЗА

Чувствительность, специфичность и точность

78 образцов из разных источников были проанализированы этим набором относительно коммерческого ELISA набора. В таблице в оригинале инструкции суммированы все данные.

Относительная чувствительность = 94%

Относительная специфичность = 95 %

Согласование =95%

Перекрестная реактивность

Проводилось изучение для определения перекрестной реактивности антител АСА этого набора и других антител. Не было найдено перекрестной реактивности против IgM позитивных образцов Рубеллы, CMV, HSV, EBV-VCA, Toxo, Chlamidia trachomatis, Dengue и RF IgM.

Точность

Таблички смотрите в оригинале инструкции.



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»
ул.Черновола, 97
г. Ивано-Франковск, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com